

Dirección

Dr. Ricardo Valentini
CEMIC
Av. Las Heras 2900
CABA – CP 1425
e-mail: rvalentini@cemic.edu.ar

Recibido: 23/10/2008 - Aceptado: 24/11/2008

Eficacia de la tinción de Gram de muestras respiratorias para la predicción de la neumonía asociada al respirador y su utilidad en la selección de la terapéutica antibiótica empírica

Autores Shiry Attie, Dafne Yagupsky, Luis Mazzuocolo, Ignacio Bonelli, Pablo Rodriguez, Ricardo Valentini
Servicio de Terapia Intensiva, Departamento de Medicina, CEMIC (Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas)

Resumen

Introducción: la neumonía asociada a la ventilación (NAV) es una complicación frecuente de la ventilación mecánica (VM) y se asocia a alta mortalidad. Su adecuado manejo se basa en detección precoz y terapia con antibióticos (ATB) empírica eficaz, siendo esenciales los métodos que permitan predecir la NAV y ayuden a seleccionar los ATB. **Objetivo:** valorar la eficacia del examen directo por tinción de Gram de muestras obtenidas del tracto respiratorio en la detección de NAV y como ayuda a la selección de ATB. **Materiales y Métodos:** se incluyeron prospectivamente 95 episodios de sospecha de NAV en 69 pacientes, considerando sólo los casos sin modificación de los ATB por más de 48 hs o sin ATB. Las muestras fueron obtenidas por medio de Lavado bronquioloalveolar a través de Fibrobroncoscopia (BAL) o minibal por catéter envainado, a ciegas (miniBal). La confirmación se efectuó por el análisis bacteriológico cuantitativo ($> 10^4$ y $> 10^3$ para el BAL y minibal respectivamente). Se calculó la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN) de la técnica de tinción directa de Gram, considerando como referencia el resultado microbiológico del cultivo del BAL o mini-BAL. Se comparó además la concordancia entre el tipo de germen observado en la tinción directa de Gram, bacilo Gram negativo (BGN) o coco Gram positivo (CGP) y el tipo de bacteria aislada en el cultivo. Se analizaron también las variables predictivas específicas o cualitativas, esto es la eficacia del Gram en predecir VAP por CGP o por BGN. **Resultados:** se diagnosticó NAV en 52 casos. La S de la tinción de Gram fue de 60%, E: 100%, VPP Positivo: 100%, VPN: 67%. En cuanto a la eficacia para predecir VAP por BGN se observó: S: 52%, E: 100%, VPP: 100%, VPN: 72%. Para CGP: S: 91%, E: 100%, VPP 100% y VPN: 99%. **Conclusión:** si bien un examen bacteriológico directo por tinción de Gram predice presencia de VAP, su VPN es bajo por lo que un directo negativo no implica ausencia de VAP. Sin embargo si ese examen directo es negativo para CGP podría asociarse a una baja probabilidad de desarrollo posterior de estafilococo, por lo que podría evitarse su cobertura empírica. La seguridad de esta observación deberá ser validada en estudios posteriores.

Palabras clave > neumonía, neumonía asociada a la ventilación mecánica, diagnóstico, tinción de Gram, lavado bronquioloalveolar

Abstract. Efficacy of the Gram stain in respiratory samples for the prediction of ventilation associated pneumonia and its utility in the selection of the initial empiric antibiotic therapy.

Introduction: Ventilator Associated Pneumonia (VAP) is a frequent complication in mechanically ventilated patients, and is associated with a high mortality. Early diagnosis

and appropriate use of empiric antibiotic therapy (ATB) is essential to its treatment. Tests that help to make an early diagnosis and select the initial ATB are useful. **Objective:** to evaluate the accuracy of the Gram stain examination of respiratory tract samples in the prediction of VAP and its potential role in the selection of empiric ATB. **Materials and methods:** prospective evaluation of 95 episodes in 69 patients with clinical suspicion of VAP who had not had any changes in the ATB for more than 48 hours or had not been treated with ATB. Samples were taken by broncho-alveolar lavage (BAL) through flexible bronchoscopy or blind mini bronchoalveolar lavage with protected catheter. VAP was confirmed when the quantitative cultures showed $\geq 10^4$ ufc/ml for BAL and $\geq 10^3$ ufc/ml for mini BAL. A comparison was made between the type of bacteria observed by the direct Gram staining (Gram negative bacteria or Gram positive bacteria) and the type of bacteria isolated by culture. Specific or qualitative predictive variables were analyzed to determine the value of Gram staining to predict a Gram-negative VAP or Gram-positive VAP. **Results:** VAP was confirmed in 52 cases. The sensitivity of the Gram stain for VAP was 60%, specificity 100%; positive predictive value: 100% and negative predictive value: 67%. The sensitivity of Gram negative bacteria for VAP was: 52%; specificity: 100%; positive predictive value: 100%; negative predictive value: 72%. The sensitivity of Gram positive bacteria for VAP was: 91%; specificity: 100%; positive predictive value: 100%; negative predictive value: 99%. **Conclusions:** a positive finding in the Gram staining examination of respiratory tract samples was highly predictive of VAP but a negative result did not mean absence of VAP, because the negative predictive value was low. However if the Gram staining is negative for Gram-positive cocci, it is very unlikely that a VAP caused by the *Staphylococcus* can be developed. It would be feasible to avoid the empiric use of anti-staphylococcal therapy on the basis of the Gram stain result but it should be necessary to study the safety of this approach in future studies.

Key words > pneumonia, ventilator-associated pneumonia, Gram stain, diagnosis accuracy, bronchoalveolar lavage

Introducción

La Neumonía asociada a la Ventilación Mecánica (NAV) es una frecuente infección en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) que determina un aumento de la morbilidad expresada en prolongación del tiempo en VM, de la estadía en UCI y de la estadía hospitalaria¹⁻⁴. Por otro lado, el diagnóstico de NAV se asocia a un incremento de la mortalidad de los pacientes asistidos en Ventilación Mecánica (VM), siendo la causa más común de infección nosocomial que contribuye a la muerte^{3-5, 6}.

El diagnóstico (Dx) de la NAV se basa actualmente en la detección de parámetros clínicos consistentes con un proceso infeccioso y en la confirmación de desarrollo bacteriológico en el examen microbiológico de muestras obtenidas del tracto respiratorio. Este análisis microbiológico requiere de por lo menos 48-72 horas para determinar crecimiento en los cultivos, establecer la significación del desarrollo, la tipificación bacteriológica y el conocimiento de la sensibilidad antibiótica. Durante ese lapso, los pacientes reciben terapéutica

antibiótica empírica, la cual estará basada en el tiempo en VM, en factores de riesgo para determinados gérmenes y en el conocimiento de la flora prevalente en la UCI y de su patrón de sensibilidad a antibióticos^{7, 8}. El tratamiento de la NAV consiste en un adecuado sostén de cuidados críticos y específicamente en un inicio precoz y adecuado del esquema antibiótico (ATB) empírico inicial, mientras se aguardan los resultados microbiológicos. En consecuencia, ante sospecha de NAV los pacientes en VM deben recibir ATB, en muchas ocasiones en forma innecesaria o si bien necesarios, el esquema seleccionado puede resultar inadecuado. El uso innecesario de ATB determina aumento de los costos de la asistencia, expone a efectos adversos de los ATB y finalmente selecciona aparición de cepas bacterianas multiresistentes^{7, 8}. Las NAV por gérmenes de alto riesgo, habitualmente multiresistentes (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*), tienen una mortalidad atribuible mayor que la de los gérmenes sensibles⁴. A su vez, el error en el esquema ATB empírico está asociado al uso de ATB previo, que selecciona estas ce-

pas más resistentes y por ende promueve una menor predicción de los patrones de sensibilidad ATB⁹. El error en esquema empírico inicial es un factor esencial en la mortalidad de esta patología^{10, 11}.

Ante este escenario, todo procedimiento diagnóstico que pueda precozmente predecir la NAV, y ayude a seleccionar el esquema ATB empírico inicial, será de suma utilidad en el adecuado manejo de esta infección.

Objetivos

Valorar en las muestras obtenidas del tracto respiratorio la utilidad del examen bacteriológico directo por tinción de Gram, para predecir la NAV y como guía para seleccionar la terapéutica antibiótica empírica.

Materiales y Métodos

Se incluyeron en forma prospectiva pacientes, mayores a 17 años, internados en UCI en VM en el periodo comprendido entre octubre del 2003 y enero de 2005, con sospecha de NAV, definida por criterio radiológico (infiltrado nuevo/creciente/persistente en la Rx de tórax) y dos o más de los siguientes: leucocitosis, fiebre, caída del $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ y secreciones respiratorias. Se incluyeron en el análisis únicamente aquellos casos que no estuvieran con tratamiento ATB por más de 48 horas o que estándolo no hubieran tenido modificaciones del esquema en el mismo lapso.

La toma de muestra se realizó por lavado bronquioalveolar (BAL) o mini-lavado bronquioalveolar (mini-BAL). El BAL se realizó mediante fibrobroncoscopia (FBC), con instilación de 5 a 6 alícuotas de 20cc de solución fisiológica. El material obtenido luego de la primera instilación fue descartado para evitar contaminación. No se aplicó anestesia tópica. La muestra fue obtenida del segmento sospechado de ser el foco de la neumonía por la radiología, y si existían infiltrados múltiples y bilaterales, del correspondiente al lóbulo medio. El mini-BAL se efectuó a través de la introducción a ciegas en la vía aérea de un catéter envainado (Combicath[®]), avanzando el catéter hasta verificarse un stop, retirándose unos 2 cm y avanzando el catéter interno protegido por un tapón. A continuación se instilaron dos alícuotas de 10cc de solución fisiológica.

El material obtenido fue enviado al laboratorio de microbiología, donde se efectuó una agitación con Vórtex por 1-2', y luego se toman 100 μl para los cultivos cuantitativos, sembrándose en medios de ágar chocolate y ágar sangre. El resto del material se centrifugó a 2000 r.p.m. por 15-20' y luego con el material sedimentado se efectuaron las tinciones de Giemsa y de Gram. Con la primera, realizando una observación microscópica a 100 campos, se determinó la calidad de la muestra, considerando como representativa la observación de menos de 1% de células epiteliales.

Se definió Dx microbiológico de NAV un recuento de gérmenes $\geq 10^3$ ufc/cc para el minibal y $\geq 10^4$ ufc/cc para el BAL. Sólo se consignaron los cultivos de bacterias comunes, no evaluándose las muestras micológicas, virales ni parasitarias.

Se estudiaron las siguientes variables: características demográficas; presencia de comorbilidad (diabetes, alcoholismo, cáncer activo, hemodiálisis, inmunosupresión); causa y tiempo de VM al momento del procedimiento y scores de gravedad (APACHE II de ingreso a UCI y SOFA del día del procedimiento).

Se calculó la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN) de la técnica de tinción directa de Gram, considerando como referencia el resultado microbiológico del cultivo del BAL o mini-BAL. Se comparó además la concordancia entre el tipo de germen observado en la tinción directa de Gram, bacilo Gram negativo (BGN) o coco Gram positivo (CGP) y el tipo de bacteria aislada en el cultivo. Se analizaron también las variables predictivas específicas o cualitativas, esto es la eficacia del Gram en predecir NAV por CGP o por BGN.

Resultados

Se analizaron 95 episodios de 69 pacientes en los que se sospechó NAV durante la VM. La edad promedio fue de 67 ± 14 años, con 56% de sexo masculino. El score de APACHE II al ingreso a UCI fue de 19 ± 6 puntos y el SOFA del día del procedimiento Dx de 5.5 ± 3 . El 87% de los episodios fueron NAV tardías, con más de 4 días de VM al momento del Dx. Se realizó BAL en el 54% y mini-BAL en 46%. En el 74% de los casos (n=70) los pacientes estaban bajo tratamiento ATB, que incluía en 21 casos administración de Vancomicina

Tabla 1

Edad (años)	67 ± 14
Sexo masculino	56%
APACHE II	19 ± 6
SOFA	5.5 ± 3
VAP tardías (> 4 días)	87%
BAL/mini-BAL intraATB	74%
BAL	54%
VAP positiva	56%
VAP por BGN	52%
VAP por CGP	7%
VAP polimicrobianas	41%

APACHE: Acute physiology and chronic health evaluation, SOFA: Sequential organ failure assessment, VAP: neumonía asociada a ventilación mecánica, BAL: lavado bronqueoalveolar, ATB: antibióticos, BGN: bacilos gram negativos, CGP: cocos gram positivos.

para cobertura de *estafilococo aureus meticilino resistente*.

Se confirmó NAV en 53 casos (56%). Los gérmenes aislados fueron BGN en 52% de los casos, CGP en el 7% (todos ellos estafilococos), y polimicrobianas el 41%; 71% con mezcla BGN y 29% BGN más CGP. Los BGN más frecuentemente aislados fueron: *pseudomonas*, *Klebsiella* y *Acinetobacter* (Tabla 1 y 2).

La tinción de Gram del examen directo fue positiva en 32 casos, todos ellos con posterior Dx microbiológico de NAV documentado por el cultivo con desarrollo significativo. Por otro lado, la tinción directa de Gram fue negativa en 63 casos, diagnosticándose posteriormente NAV por cultivo en un 33% de las mismas. La tinción de Gram para el examen directo de muestras respiratorias mostró una S= 60%, E= 100%, VPP= 100% y VPV= 67% (Tabla 3).

En cuanto al análisis cualitativo, el examen directo con tinción de Gram para el Dx de VAP específicamente por BGN presentó una S= 52%, E= 100%, VPP= 100% y VPV= 72%; y para el Dx de VAP por CGP una S= 91%, E= 100%, VPP= 100%, VPV=99% (Tablas 4 y 5).

De los 7 casos de VAP polimicrobianas producidas por CGP y BGN, en un caso el examen directo por tinción de Gram no evidenció ningún germen y en otros 3 sólo mostró al CGP.

Discusión

La reducción de las tasas de morbilidad y mortalidad de la NAV está vinculada esencialmente a un diag-

Tabla 2. Aslamientos

CGP	
Estafilococo	11
BGN	42
<i>Pseudomonas</i>	19
<i>Klebsiella</i>	12
<i>Acinetobacter</i>	10
<i>Enterobacter</i>	5
<i>E. coli</i>	4
<i>Stenotrophomonas</i>	3
<i>Proteus</i>	3
<i>Haemophilus</i>	2
<i>Serratia</i>	2
Otros	5

CGP: cocos gram positivos, BGN: bacilos gram negativos

Tabla 3 Valores de predicción del Gram para NAV

	VAP (+) (n=53)	VAP (-) (n=42)
Directo Gram (+) N=32	32	0
Directo Gram (-) N=63	21	42

NAV: neumonía asociada a ventilación mecánica

Tabla 4. Valores de predicción del Gram para VAP por BGN

	VAP positiva para BGN (n=42)	VAP negativa para BGN* (n=53)
Tinción positiva para BGN	22	0
Tinción negativa para BGN	20	53

* incluye los casos sin confirmación bacteriológica y las VAP por CGP
VAP: neumonía asociada a ventilación mecánica, BGN: bacilos gram negativos

Tabla 5. Valores de predicción del Gram para VAP por CGP

	VAP positiva para CGP (n=11)	VAP negativa para CGP (n=84)
Tinción positiva para CGP	10	0
Tinción negativa para CGP	1	84

* incluye los casos sin confirmación bacteriológica y las VAP por BGN
VAP: neumonía asociada a ventilación mecánica, CGP: cocos gram positivos

nóstico y tratamiento precoz y a una selección antibiótica empírica adecuada a los gérmenes que habrán de aislarse en los estudios microbiológicos⁹⁻¹².

Todo procedimiento diagnóstico que pueda predecir precozmente la presencia de NAV facilitará su tratamiento temprano y si predice su ausencia, permitirá evitar el inicio de los ATB en los casos dudosos, inducirá a dirigir la búsqueda del foco infeccioso a sitios extrapulmonares, evitará exposición a efectos adversos de los ATB, y fundamentalmente contribuirá a reducir su uso indiscriminado y a disminuir la aparición de multirresistencia. Asimismo, teniendo en cuenta que un factor esencial para reducir la mortalidad de la NAV es que los ATB iniciales sean adecuados, son trascendentales los métodos que ayudan a seleccionar los esquemas ATB empíricos. En este trabajo evaluamos en muestras obtenidas del tracto respiratorio, por medio de BAL a través de FBC o mini-BAL a ciegas, la utilidad del examen bacteriológico directo por tinción de Gram, para predecir la NAV y como guía para seleccionar la terapéutica antibiótica empírica.

En los 95 episodios de sospecha de NAV estudiados, observamos que la presencia de una tinción de Gram positiva se correlacionó en todos los casos con confirmación bacteriológica de NAV (100% de valor predictivo positivo). Por el contrario, una muestra negativa, no descartó desarrollo bacteriológico significativo posterior, siendo la especificidad del 60% y el valor predictivo negativo del 67%. Los trabajos que han evaluado el examen directo por tinción de Gram de muestras respiratorias han mostrado resultados dispares. Los resultados de sensibilidad reportados fueron entre 56%-90%, especificidad 60%-100%¹³⁻²³. La discordancia en los valores observados depende, entre otros factores, de si la muestra fue obtenida bajo ATB, con modificación de los mismos en los días previos, del método utilizado como referencia para diagnosticar NAV, de la técnica utilizada para la toma de la muestra y para los trabajos comparativos con cultivos cuantitativos, del punto de corte utilizado como de significación diagnóstica. Nosotros incluimos sólo los episodios de sospecha de NAV, que no tuvieran ATB por más de 48 horas o en los que no se hubiera efectuado ningún cambio en el esquema ATB durante ese lapso. En el 74% de nuestros casos la muestra fue obtenida, si bien con la premisa explicitada, bajo ATB. El uso de ATB, mientras no haya habido modificación reciente del

esquema, no afecta el rendimiento de muestras obtenidas para cultivo cuantitativo, tanto del BAL como del cepillo protegido (PSB), pero existe la posibilidad que pueda haber afectado el directo de la tinción de Gram, y esto explique la baja sensibilidad que observamos²⁴. En otros trabajos la mayor sensibilidad puede estar explicada porque el método de referencia diagnóstica fue clínico o la técnica de la toma de la muestra fue el aspirado traqueal¹⁶. En ambas circunstancias, se registrarán más neumonías, a expensas de una disminución de la especificidad. Excepto en algunos ensayos, en casi todos puede observarse una elevada especificidad y alto valor predictivo positivo para las muestras protegidas. La implicancia clínica de estos datos sugiere que ante una sospecha de NAV, una tinción de Gram positiva en las muestras respiratorias tomadas por métodos invasivos, determinará un inicio inmediato de la terapéutica ATB. Esto es esencial especialmente en los casos donde la NAV es dudosa. Por otro lado, una tinción negativa no evitará el inicio de la terapéutica ATB. Algunos autores demostraron una mejoría sustancial en la predicción de NAV al combinar la tinción directa de muestras protegidas y no protegidas para aprovechar sus respectivas ventajas (las muestras no protegidas tienen alta sensibilidad y valor predictivo negativo)^{16, 25}.

Otro rol que puede evaluarse en el examen bacteriológico directo por tinción de Gram, es su utilización como guía en la selección del esquema ATB empírico. En este sentido, tratamos de determinar la correlación entre los hallazgos del Gram con los resultados bacteriológicos. En las NAV con directo positivo para BGN, todos los pacientes tuvieron desarrollo en los cultivos de diferentes tipos de BGN. Si el examen directo mostró CGP todos los episodios se correlacionaron con desarrollo de NAV por CGP, todos por estafilococo. Cuando la NAV fue polimicrobiana por mezcla de CGP y BGN, el examen directo del Gram permitió evidenciar a los CGP en la mayoría pero en el 67% no mostró al BGN.

En nuestro estudio hicimos un análisis adicional a la correlación cualitativa, y tratamos de determinar la eficacia del Gram en predecir o descartar una NAV por CGP o por BGN. Como observación interesante, la ausencia de una tinción de Gram con CGP en el examen directo, implicó una elevada predicción (99%) de que no habrá desarrollo posterior de CGP, específicamente estafi-

lococo en nuestra serie. En 84 episodios el examen microbiológico fue negativo (no NAV) o presentaron NAV por BGN. En ninguno de ellos, se apreció CGP en el Gram directo. Asimismo de las 11 VAP por CGP sólo en un caso no se detectaron en el directo. Estos datos señalan que el examen directo con tinción de Gram tiene un alto valor predictivo negativo para neumonía por CGP, esencialmente estafilococo (99%) y un elevado valor predictivo positivo (100%) si CGP fueron observados en el examen directo. Con respecto a los BGN, si bien toda detección en el directo de un BGN se asoció con presencia de NAV por BGN y en ningún caso de NAV negativo o NAV debida a estafilococo se observaron BGN en el directo, la sensibilidad estuvo disminuida ya que en 48% de las VAP por BGN el directo no determinó la presencia de estos gérmenes. Estos resultados nos indican que, ante la presencia de un directo con BGN precozmente debemos iniciar terapéutica adecuada para estos gérmenes. La selección del tipo de ATB dependerá no obstante del tiempo de hospitalización, tiempo de VM, de si hubo terapia antibiótica previa, los factores de riesgo para determinados gérmenes y el conocimiento de la flora y de los patrones de sensibilidad locales. Sin embargo, si el examen directo no muestra BGN no se puede descartar su desarrollo significativo posterior, por lo que ante una sospecha definida de NAV, debemos considerar su cobertura empírica. Por otro lado, la eficacia del Gram en predecir NAV por estafilococo fue muy buena, por lo que ante presencia de CGP en las muestras respiratorias, se debería iniciar rápidamente la terapéutica para cubrir estos gérmenes. La ausencia de CGP, al tener un elevado valor predictivo negativo, permitiría evitar su cobertura.

Los estudios previamente citados encontraron una concordancia leve a moderada entre los resultados de la tinción de Gram y los cultivos cuantitativos, dos de ellos confirmando también un alto valor predictivo negativo de la ausencia de CGP en la tinción directa^{21, 23}.

Algunos estudios han analizado el uso de marcadores biológicos como la endotoxina, la proteína C reactiva, la procalcitonina y el TREM-1 (triggering receptor expressed in myeloid cells) y su forma soluble (sTREM-1) para el Dx precoz de la VAP con variada eficacia diagnóstica, siendo los últimos dos los de mayor precisión diagnóstica^{26,27}, no encontrándose aún disponibles para su uso clí-

nico. Por otro lado, estas estrategias necesitan en su mayoría del resultado de los cultivos, para seleccionar adecuadamente la terapéutica ATB, lo que implica que los tratamientos antibióticos sean empíricos y por lo tanto en ocasiones inadecuados o innecesarios.

Las recomendaciones de guías recientes del tratamiento de la NAV, se basan en la iniciación de esquemas fundados en la duración de la VM, los factores de riesgo para la presencia de determinados gérmenes y el conocimiento de patrones de sensibilidad locales de cada UCI²⁸. Esto determina que la mayoría de los pacientes con sospecha de NAV recibían esquemas ATB amplios, que serán ajustados varios días después según resultados bacteriológicos. Así, la Guía de la ATS y el IDSA, recomiendan que en una NAV tardía (= a 5 días de VM), el esquema ATB inicial debe considerar la cobertura de BGN multirresistentes y del *estafilococo* meticilino resistente (SAMR), máxime, ante la presencia de factores de riesgo de multirresistencia, que por otro lado, son altamente frecuentes en la población de pacientes de UCI en VM²⁸.

Según nuestras observaciones, la simple realización de una tinción de Gram tiene un valor marginal en la detección precoz de la VAP, ya que si bien la presencia de una tinción positiva en el examen directo se acompañó en todos los casos de un desarrollo cuantitativo significativo posterior, un apreciable número de casos no fueron detectados en el Gram directo. Un cardinal estudio acerca de la utilidad de los métodos invasivos en el manejo de la VAP, utilizó un árbol de decisión en el que el inicio de la terapéutica ATB dependía del resultado del Gram, posponiendo en los casos negativos el inicio de ATB hasta los cultivos²⁹. Si bien en este trabajo esta estrategia no tuvo aparentemente un impacto negativo sobre el pronóstico de la neumonía, nuestros datos nos indican que muchas neumonías quedarán sin cobertura ATB, por lo que la validación de este esquema de manejo debe comprobarse. Tal vez la mejor eficacia del Gram esté en ayudar a la selección de los ATB empíricos y más específicamente a evitar el innecesario uso de Vancomicina o Linezolid para el SAMR, si CGP no son observados en la tinción. De todas maneras, afirmamos una vez más, la seguridad de esta propuesta aún no ha sido evaluada y adecuadamente validada.

Entre tanto, la tinción de Gram de muestras respiratorias obtenidas por BAL o mini-BAL po-

drían utilizarse según las siguientes recomendaciones.

1. Iniciar prontamente ATB si el Gram del directo es positivo, efectuando cobertura para CGP o para BGN según la tinción efectuada.
2. Si no se observan BGN, y hay alta sospecha de NAV o el paciente presenta un cuadro de sepsis severa, iniciar ATB con cobertura para BGN.
3. Deberá conformarse la otra observación de nuestro estudio: de no observarse en el directo CGP, se podría evitar el uso de cobertura empírica para estafilococo, más específicamente el meticilino resistente, como parte del esquema inicial de una NAV, mientras se aguardan el resultado de los cultivos.

Conclusión

El examen bacteriológico directo por tinción de Gram puede tener un rol en el Dx precoz de la NAV, dado su alto valor predictivo positivo. Un directo negativo por el contrario no implica una definida ausencia de NAV. Sin embargo si ese examen directo es negativo para CGP, podría asociarse a una baja probabilidad de desarrollo posterior de estafilococo, por lo que podría evitarse su cobertura empírica. Esta conducta aún no ha sido exhaustivamente validada. Por otro lado, un examen positivo tiene una alta correlación con las bacterias aisladas en cultivo, pudiendo guiar la selección ATB inicial.

Bibliografía

1. Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, *et al.* The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. *JAMA* 1995; 274: 639-44.
2. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. *Crit Care Med* 1999; 27: 887-92.
3. Heyland DK, Cook DJ, Griffith L, Keenan SP, Brun-Buisson C. The attributable morbidity and mortality of ventilator-associated pneumonia in the critically ill patient. The Canadian Critical Trials Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1249-56.
4. Fagon JY, Chastre J, Hance AJ, Montravers P, Novara A, Gibert C. Nosocomial pneumonia in ventilated patients: a cohort study evaluating attributable mortality and hospital stay. *Am J Med* 1993; 94: 281-8.
5. Fagon JY, Chastre J, Vuagnat A, Trouillet JL, Novara A, Gibert C. Nosocomial pneumonia and mortality among patients in intensive care units. *JAMA* 1996; 275: 866-9.
6. Rello J, Paiva JA, Baraibar J, *et al.* International Conference for the Development of Consensus on the Diagnosis and Treatment of Ventilator-associated Pneumonia. *Chest* 2001; 120: 955-70.
7. Rello J, Ausina V, Ricart M, Castella J, Prats G. Impact of previous antimicrobial therapy on the etiology and outcome of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1993; 104: 1230-5.
8. Trouillet JL, Chastre J, Vuagnat A, *et al.* Ventilator-associated pneumonia caused by potentially drug-resistant bacteria. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 531-9.
9. Dupont H, Mentec H, Sollet JP, Bleichner G. Impact of appropriateness of initial antibiotic therapy on the outcome of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med* 2001; 27: 355-62.
10. Luna CM, Vujacich P, Niederman MS, *et al.* Impact of BAL data on the therapy and outcome of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1997; 111: 676-85.
11. Kollef MH, Ward S. The influence of mini-BAL cultures on patient outcomes: implications for the antibiotic management of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1998; 113: 412-20.
12. Iregui M, Ward S, Sherman G, Fraser VJ, Kollef MH. Clinical importance of delays in the initiation of appropriate antibiotic treatment for ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2002; 122: 262-8.
13. Allaouchiche B, Jaumain H, Chassard D, Bouletreau P. Gram stain of bronchoalveolar lavage fluid in the early diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Br J Anaesth* 1999; 83: 845-9.
14. Mimoz O, Karim A, Mazoit JX, Edouard A, Leprince S, Nordmann P. Gram staining of protected pulmonary specimens in the early diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Br J Anaesth* 2000; 85: 735-9.
15. Marquette CH, Wallet F, Nevier R, *et al.* Diagnostic value of direct examination of the protected specimen brush in ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J* 1994; 7: 105-13.
16. Blot F, Raynard B, Chachaty E, Tancrede C, Antoun S, Nitenberg G. Value of gram stain examination of lower respiratory tract secretions for early diagnosis of nosocomial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1731-7.
17. Duflo F, Allaouchiche B, Debon R, Bordet F, Chassard D. An evaluation of the Gram stain in protected bronchoalveolar lavage fluid for the early diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Anesth Analg* 2001; 92: 442-7.
18. Prekates A, Nanas S, Argyropoulou A, *et al.* The diagnostic value of gram stain of bronchoalveolar lavage samples in patients with suspected ventilator-associated pneumonia. *Scand J Infect Dis* 1998; 30: 43-7.
19. Papazian L, Autillo-Touati A, Thomas P, *et al.* Diagnosis of ventilator-associated pneumonia: an evaluation of direct examination and presence of intracellular organisms. *Anesthesiology* 1997; 87: 268-76.
20. Croce MA, Fabian TC, Waddle-Smith L, *et al.* Utility of Gram's stain and efficacy of quantitative cultures for posttraumatic pneumonia: a prospective study. *Ann Surg* 1998; 227: 743-51.
21. Davis KA, Eckert MJ, Reed LR, *et al.* Ventilator associated pneumonia in injured patients: do you trust your gram's stain?. *J Trauma* 2005; 58: 462-67.

22. Raghavendran K, Wang J, Belber C, *et al.* Predictive value of sputum gram stain for the determination of appropriate antibiotic therapy in ventilator associated pneumonia. *J Trauma* 2007; 62:1377- 83.
23. Goldberg AE, Malhotra AK, Riaz OJ, *et al.* Predictive value of bronchoalveolar lavage fluid gram's stain in the diagnosis of ventilator associated pneumonia: a prospective study. *J Trauma*. 2008; 65: 871-78.
24. Souweine B, Veber B, Bedos JP, *et al.* Diagnostic accuracy of protected specimen brush and bronchoalveolar lavage in nosocomial pneumonia: impact of previous antimicrobial treatments. *Crit Care Med* 1998; 26: 236-44.
25. Veinstein A, Brun-Buisson C, Derrode N, *et al.* Validation of an algorithm based on direct examination of specimens in suspected ventilator associated pneumonia. *Intensive Care Med* 2006; 32: 676-83.
26. Gibot S, Cravoisy A, Levy B, Bene MC, Faure G, Bollaert PE. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells and the diagnosis of pneumonia. *N Engl J Med* 2004; 350: 451-8.
27. Determann RM, Millo JL, Gibot S, *et al.* Serial changes in soluble triggering receptor expressed on myeloid cells in the lung during development of ventilator associated pneumonia. *Intensive Care Med* 2005; 31: 1495- 500.
28. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. American Thoracic Society; Infectious Diseases Society of America. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 388-416.
29. Fagon JY, Chastre J, Wolff M, *et al.* Invasive and noninvasive strategies for management of suspected ventilator-associated pneumonia. A randomized trial. *Ann Intern Med* 2000; 132: 621-30.